

УДК — 597.556.3 : 579.23 + 575.121 : 579.23

СИМБИОНТНАЯ МИКРОФЛОРА, КОЛОНИЗИРУЮЩАЯ ТЕГУМЕНТ ПРОТЕОЦЕФАЛИДНЫХ ЦЕСТОД И КИШЕЧНИК ИХ ХОЗЯЕВ — РЫБ

© Ж. В. Корнева, А. О. Плотников

В сравнительном (морфологическом и экологическом) аспекте была изучена симбионтная микрофлора (МКФ), колонизирующая тегумент протеоцефалидных цестод и кишечник их хозяев — рыб. Можно констатировать наличие у цестод нормальной симбионтной микрофлоры, состоящей из обязательно присутствующей на поверхности тегумента популяции наннобактерий, и «глубинной МКФ», характерной для отдельных видов паразитов. Каждому конкретному паразито-хозяинному микробиоценозу присущ индивидуальный состав симбионтных микроорганизмов, при этом микрофлора паразита и микрофлора кишечника хозяина различаются. По-видимому, на состав симбионтной МКФ оказывают влияние физиология, биохимия и/или диета хозяев. Наименьшее количество бактерий и разнообразие их морфотипов наблюдаются у паразитов из молоди рыб. Увеличение биоразнообразия бактерий и их количества происходит по мере взросления рыбы-хозяина, что свидетельствует о постепенном заселении тегумента цестод бактериальными клетками, источником которых является кишечная микрофлора хозяина.

Исследованию кишечной микрофлоры (МКФ) и ее значению для жизнедеятельности организма хозяев в последние десятилетия уделено значительное внимание (см. обзоры: Lee, 1980; Ringø, Gatesoupe, 1998; Hansen, Olafsen, 1999; Ringø et al., 2003). Установлено, что кишечные микроорганизмы не только принимают активное участие в процессах пищеварения, но еще синтезируют витамины и другие незаменимые вещества, в частности, влияющие на иммунную систему хозяина (Таппоск, 1999). Однако, как выяснилось, на пищеварительно-транспортные процессы оказывает влияние еще одна составляющая кишечного микробиоценоза — цестоды. Они лишены собственной пищеварительной системы, обладают механизмами мембранного пищеварения и активного транспорта, что позволяет им использовать не только диету хозяина, но также и ферменты хозяина, адсорбированные на поверхности их тела (Izvekova et al., 1997; Кузьмина и др., 2000). Признание того факта, что тегумент цестод является сложной полифункциональной системой, обладающей собственной симбионтной микрофлорой, привело к появлению нового многообещающего направления исследований: изучению взаимоотношений между микрофлорой кишечника и микрофлорой гельминтов, обитающих в пищеварительном тракте (Извекова, Лаптева, 2002). Физиологические исследования показали, что в кишечнике шуки гельминт и симбионтная микрофлора формируют биоценоз, где бактериальные ферменты, в частности протеазы, участвуют в процессах пищеварения как хозяина, так и его паразита (Извекова, 2003). Однако до сих пор

известны единичные исследования системы хозяин—паразит—симбионтная микрофлора, проведенные на пресноводных рыбах. Выявлено несколько морфотипов симбионтных микроорганизмов, колонизирующих кишечник радужной форели (Leser, Pointel, 1979); а также ультраструктурные особенности и способы прикрепления бактериальных клеток к тегументу кариофиллидных цестод (Poddubnaya, Izvekova, 2005) и покровам псевдофиллидной цестоды *Eubothrium rugosum* (Поддубная, 2005). Целью наших исследований было изучение в сравнительном аспекте симбионтной микрофлоры, колонизирующей покровы нескольких протеоцефалидных цестод и кишечника их хозяев — рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Половозрелые *Proteocephalus torulosus* (Batsch, 1786) извлекались из кишечника гольцов *Barbatula barbatula* (Linnaeus, 1758), отловленных в р. Ильдь, в районах сел Колотино и Марьино Ярославской обл., а также из кишечника уклейки *Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758) и синца *Ballerus ballerus* (Linnaeus, 1758), отловленных в Рыбинском водохранилище. Цестод *P. percae* (Muller, 1780) извлекали из кишечника мальков окуней *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758), отловленных в р. Ильдь, в районе с. Марьино, и из кишечника окуней-годовиков, отловленных в Рыбинском водохранилище. Цестод *P. cernuus* извлекали из кишечника взрослых ершей *Gymnocephalus cernuus* (Linnaeus, 1758), отловленных в Рыбинском водохранилище. В каждом случае исследовали 3—4 экз. паразитов и кусочков кишечника их хозяев, которые фиксировали сначала 2.5%-ным глутаровым альдегидом на какодилатном буфере (рН 7.2) в течение 1—2 сут, дофиксировали 1%-ным OsO_4 на том же буфере, дегидратировали в спиртах, ацетоне, после чего часть материала заливали в эпон-аралдит, другую — высушивали в аппарате критической точки для последующего изучения в сканирующем электронном микроскопе LEO-1420. Тонкие срезы контрастировали уранилацетатом, свинцом и просматривали в электронном микроскопе JEM-100C при 80 kV.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Микрофлора, ассоциированная с поверхностью пороков паразита и кишечником хозяев-рыб

В результате изучения симбионтной микрофлоры (МКФ) тегумента нескольких видов цестод рода *Proteocephalus* и кишечника рыб-хозяев у всех исследованных объектов обнаружена многообразная «поверхностная» популяция бактериальных клеток, колонизирующих апикальные отделы микротрихий (на поверхности паразитов) и микроворсинок (на поверхности кишечника хозяев). Эта популяция доступна для изучения методом сканирующей электронной микроскопии, но не обнаруживается на ультратонких срезах при исследовании методом просвечивающей электронной микроскопии, очевидно утрачиваясь в процессе подготовки материала. Для всех паразитов и их хозяев характерно наличие наннобактерий (палочек, кокков и коккопалочек), которые располагаются либо по одиночке, либо формируют микроколонии (рис. 1, А, Б; 2, А—В). Самыми распространенными, обнаруженными у всех изученных паразитов, были звездчатые микроколонии из палочковидных с закругленными концами наннобактерий, длина которых

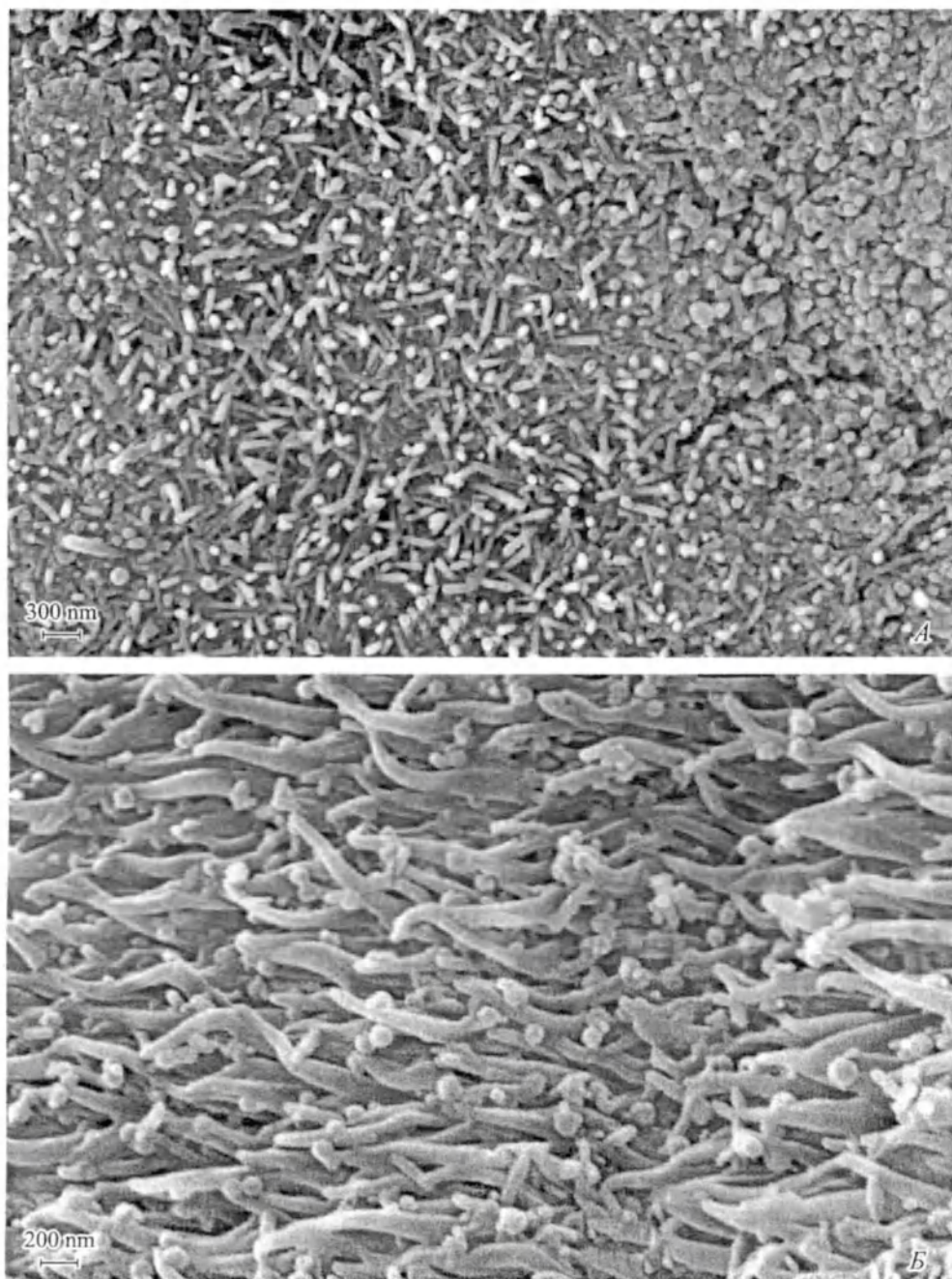


Рис. 1. Симбионтные бактерии на пищеварительно-транспортных поверхностях — тегументе паразита и кишке рыбы-хозяина.

А — наноккокки и нанопалочки на поверхности кишечника гольца, отловленного в районе дер. Колотино;
 Б — наноккокки и микроколонии на поверхности тегумента *P. cernua* из кишечника взрослого окуня.

Fig. 1. Symbiotic bacteria on the digestive-transport surfaces — the tegument of parasite and the intestine of fish host.

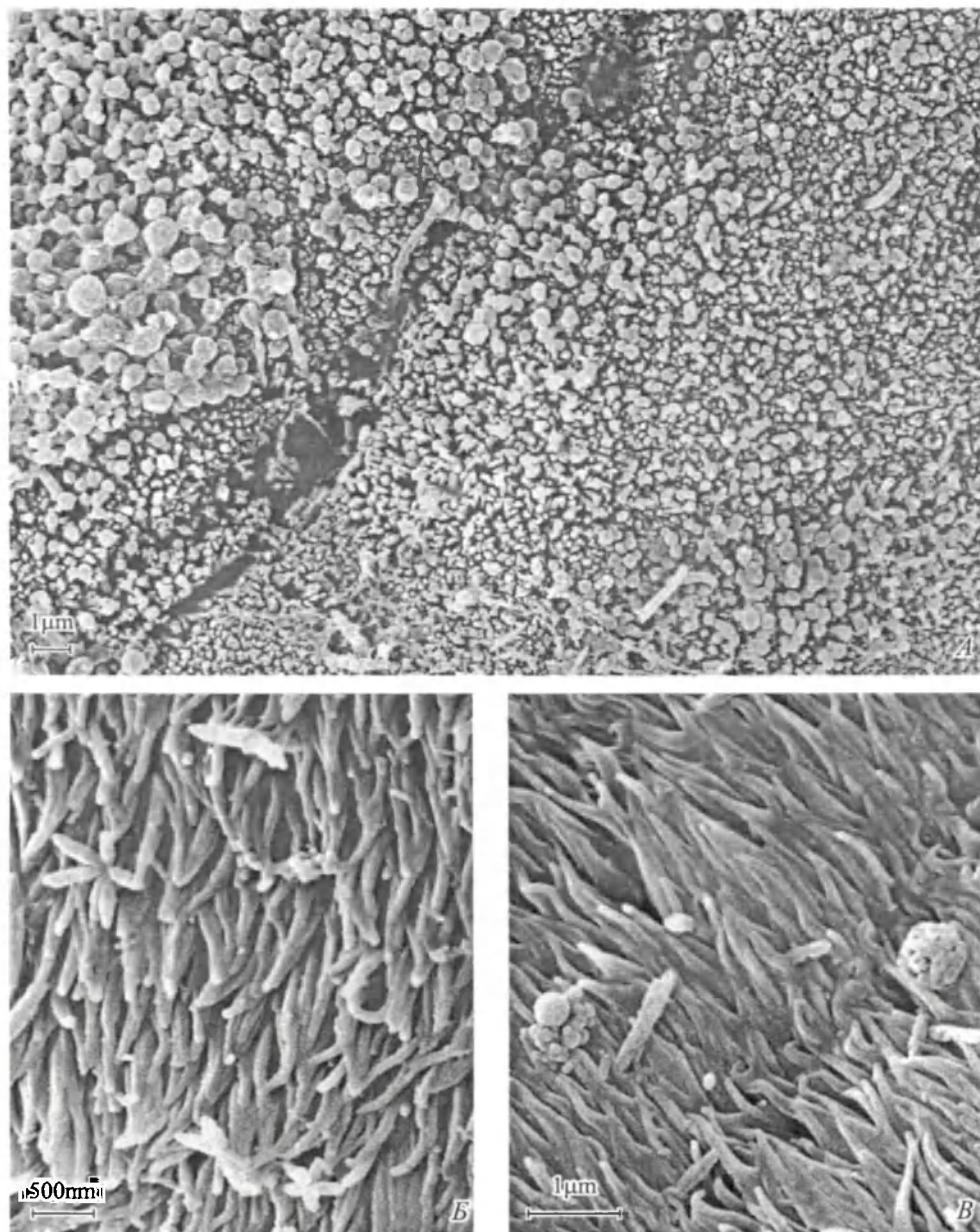


Рис. 2. Симбионтные бактерии на пищеварительно-транспортных поверхностях — тегументе паразита и кишке рыбы-хозяина.

А — бактерии на поверхности кишечника гольца, отловленного в районе дер. Марьино; Б, Б' — различные микроколонии из нанобактериальных клеток на поверхности тегумента *P. torulosus* из кишечника гольца.

Fig. 2. Symbiotic bacteria on the digestive-transport surfaces — the tegument of parasite and the intestine of fish host.

колебалась от 200 до 500 нм (рис. 2, Б). У *Proteocephalus torulosus* из гольца и *P. percae* из окуня-годовика наблюдались шаровидные микроколонии из коротких 100—200 нм палочковидных наннобактерий и шаровидные микроколонии из наннококков диаметром около 100 нм (рис. 2, В).

Поверхностная популяция МКФ состоит из традиционно изучаемых микроорганизмов (размером более микрона), одиночных и колониальных, отличающихся значительным морфологическим разнообразием у каждого из исследованных объектов. Наиболее часто встречающиеся бактерии — кокки от 100 нм до 3 мкм, а также палочковидные бактерии с закругленными концами толщиной от 100 до 500 нм и длиной от 200 нм до 4 мкм. Далее мы опишем наиболее характерные микроорганизмы, благодаря которым картина заселения пищеварительно-транспортных поверхностей приобретает индивидуальность.

Proteocephalus torulosus

На поверхности микротрихального бордюра паразитов преобладали представители наннобактерий, кокки диаметром около 1 мкм, и короткие палочки длиной 1 мкм. У червей из кишечника гольцов, обитающих в районе с. Марьино, наблюдались характерные звездчатые колонии тонких палочковидных клеток с закругленными концами, достигающих в длину 2 мкм (рис. 3, А). Эти колонии отсутствовали у паразитов, выловленных в то же время, но на другом участке реки.

Микроворсинки кишечника гольцов, выловленных в районе с. Марьино, колонизированы преимущественно кокками, размеры которых варьировали от 300 нм до 1.5 мкм, встречаются тонкие палочковидные клетки длиной 2 мкм. Цепочки толстых палочковидных микроорганизмов из 2—6 звеньев прикрепляются базальным концом между микроворсинками и возвышаются над ними на несколько микрон. Диаметр цепочек достигает 300 нм (рис. 3, Б).

МКФ гольцов, выловленных в районе с. Колотино, состоит преимущественно из тонких палочковидных бактериальных клеток от 600 нм до 1.4 мкм (рис. 3, В). Среди наннобактерий также преобладают палочки и микроколонии из наннопалочек.

Поверхность кишечника уклеи колонизирована наннобактериями, толстыми палочковидными бактериальными клетками длиной свыше 1 мкм, спиралями и кокками различных размеров (рис. 3, Г).

Proteocephalus cernua

Покровы паразита колонизированы наннобактериями и традиционными бактериями, преимущественно кокками, разнообразных размеров от 0.5 до 2 мкм. В то же время на поверхности кишки его хозяина — ерша — преобладают тонкие палочковидные бактерии различного диаметра, которые достигают в длину 4 мкм (рис. 4, А).

Proteocephalus percae

МКФ червей (из кишечника мальков окуней) представлена обычным набором наннобактерий, а также кокками 1.5 мкм и звездчатыми колониями, состоящими из тонких палочек с закругленными концами дли-

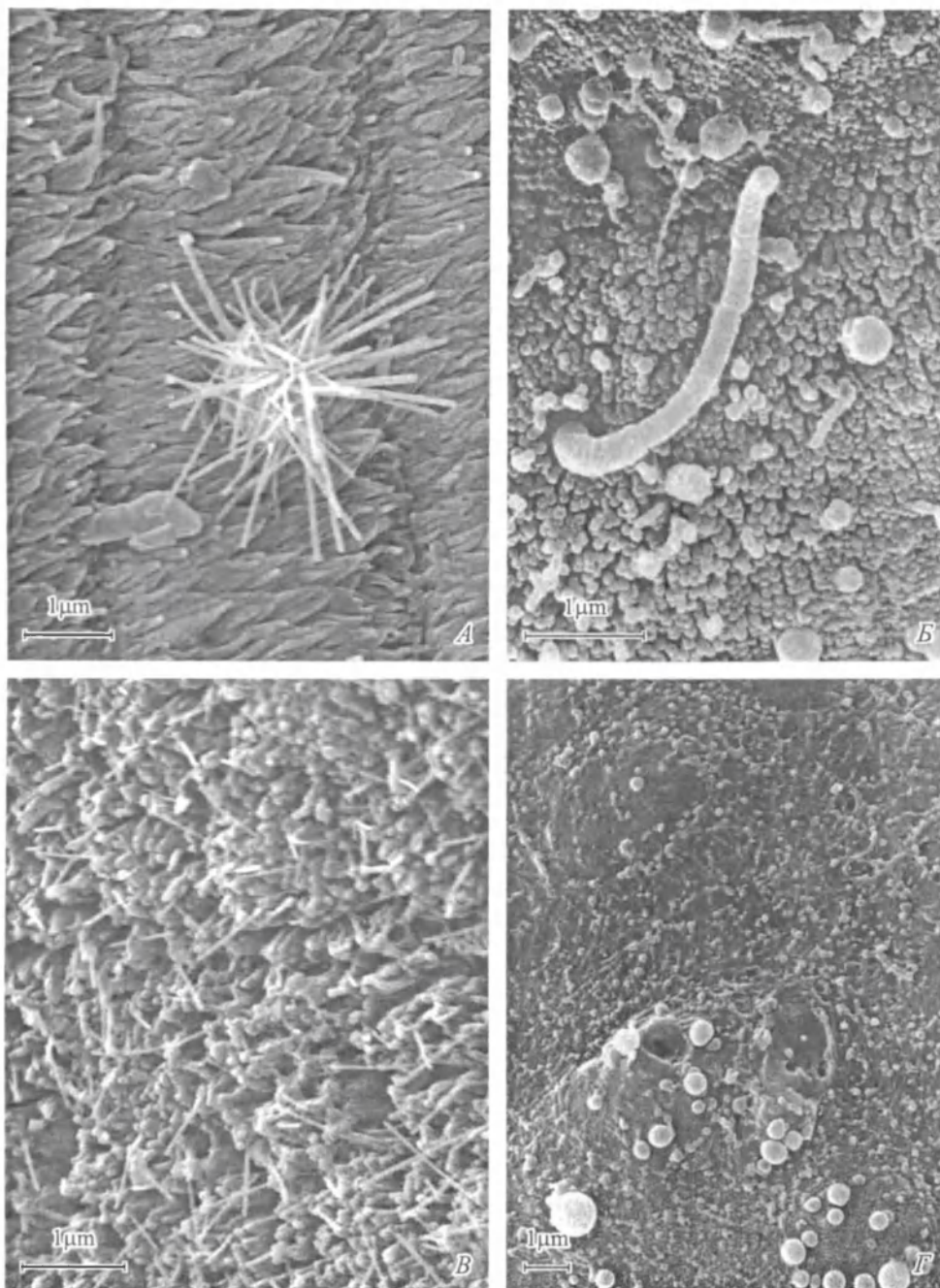


Рис. 3. Симбионтные бактерии на пищеварительно-транспортных поверхностях — тегументе паразита и кише рыбы-хозяина.

А — колония из палочковидных микроорганизмов на поверхности тегумента *P. torulosus* из кишечника гольца; *Б* — кокки и цепочки палочковидных бактерий на поверхности кишечника гольца, отловленного в районе дер. Марьино; *В* — палочковидные бактерии на поверхности кишечника гольца, отловленного в районе дер. Колотино; *Г* — кокки на поверхности кишечника уклейки.

Fig. 3. Symbiotic bacteria on the digestive-transport surfaces — the tegument of parasite and the intestine of fish host.

ной 1 мкм (рис. 4, Б). Кишечник хозяев колонизирован палочковидными наннобактериями и отдельными кокками, размерные величины которых изменяются от 0.5 до 2 мкм (рис. 4, В).

МКФ цестод из взрослых окуней (первого вылова в Рыбинском водохранилище), помимо набора наннобактерий, состоит из толстых палочковидных бактерий длиной около 1 мкм и многочисленных кокков, достигающих 3 мкм в диаметре. С микроворсинками кишечника взрослых окуней ассоциированы разнообразные одиночные и колониальные наннобактерии, а также кокки диаметром до 6 мкм.

У взрослых окуней второго вылова микроворсинки кишечника, помимо наннобактерий и отдельных кокков диаметром 2 мкм, колонизированы многочисленными тонкими палочковидными бактериями от 0.5 до 2 мкм дл. (рис. 4, Г). МКФ цестод, обитающих в кишечнике этих окуней, представлена преимущественно наннобактериями: кокками и коккопалочками, а также палочковидными бактериальными клетками различной толщины и длиной либо 0.5—1, либо 3 мкм.

II. «Глубинная» микрофлора, ассоциированная с покровами цестод

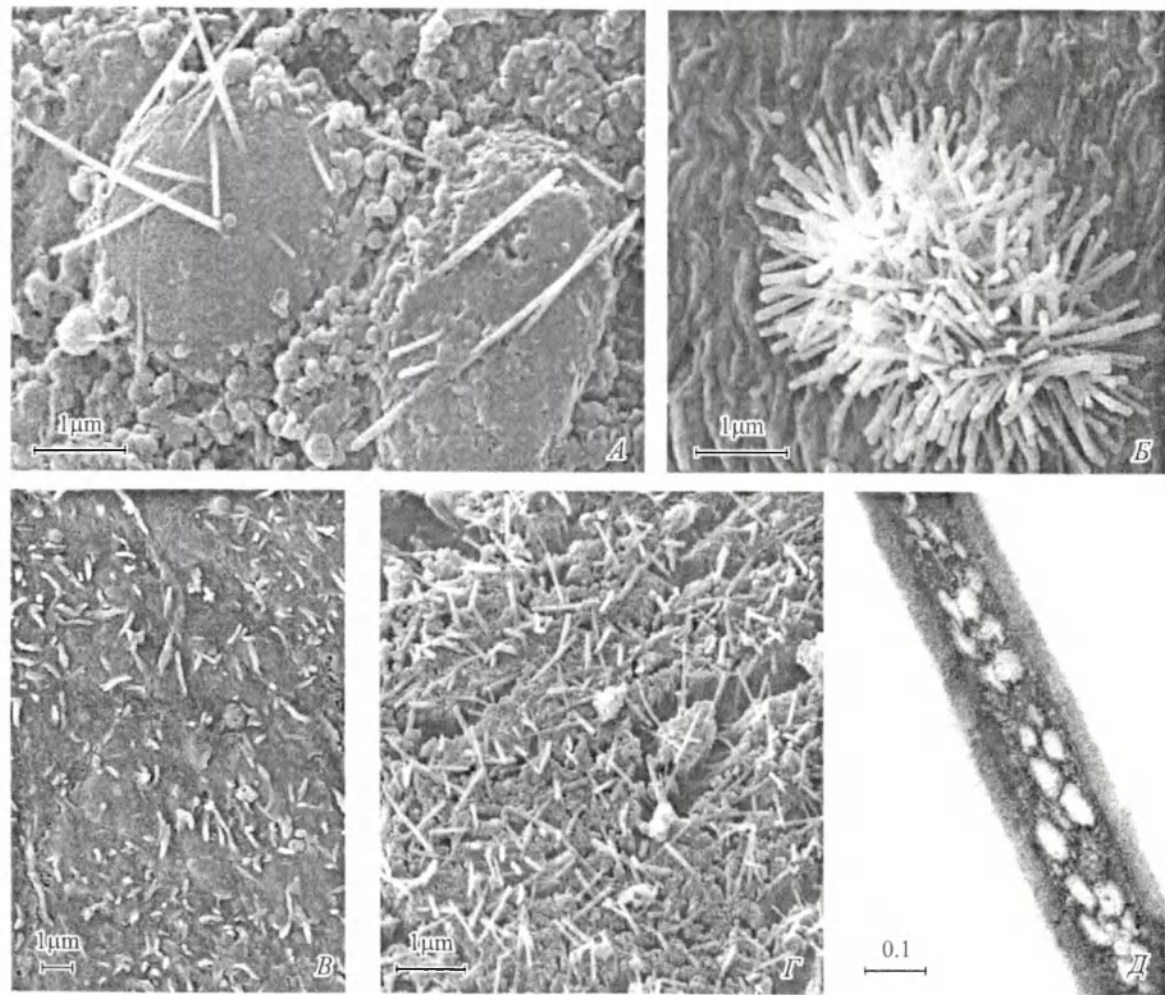
«Глубинная» популяция бактериальных симбионтов, обитающих в микротрихальном бордюре или непосредственно над его поверхностью, характерна не для всех видов протеоцефалид, у разных видов отличается по количественному составу. Между микроворсинками в глубине щеточной каймы кишечника рыб-хозяев при помощи трансмиссионного электронного микроскопа бактериальные клетки обнаружены не были.

Proteocephalus percae (из окуней-головиков)

1. *Веретеновидные бактерии*. Длинные тонкие веретеновидные бактерии представлены двумя разновидностями, которые отличаются толщиной и некоторыми ультраструктурными особенностями капсулы. Клетка в обоих случаях правильной формы. Поверхность клеточной стенки первого морфотипа неровная, покрытая различного размера фрагментами капсульного фибриллярного и гранулярного материала. Клеточная стенка грамтрицательного типа, представленная цитоплазматической и наружной мембранами, разделенными периплазматическим пространством, заполненным материалом средней электронной плотности. Периплазматическое пространство неодинаковой толщины, поскольку наружная мембрана имеет фестончатую форму. В цитоплазме выявляются рибосомы и полирибосомы, среди которых видны продольные осmioфобные фибриллы. Нуклеотид располагается в средней части клетки и представлен осmioфобными зонами четкообразной формы, заполненной тонкими фибриллами.

Бактериальные клетки второго морфотипа покрыты толстым слоем аморфного капсулярного материала равномерной толщины. В цитоплазме расположены вакуоли, не ограниченные мембраной, заполненные осmioфобным аморфным веществом. Это могут быть газовые вакуоли или включения запасных питательных веществ (рис. 4, Д).

2. *Спирохеты*. На продольном срезе выявляется палочковидная бактерия извитой формы. Поверхность клеточной стенки гладкая. Слои клеточной стенки визуализируются нечетко, но в отдельных участках определяется



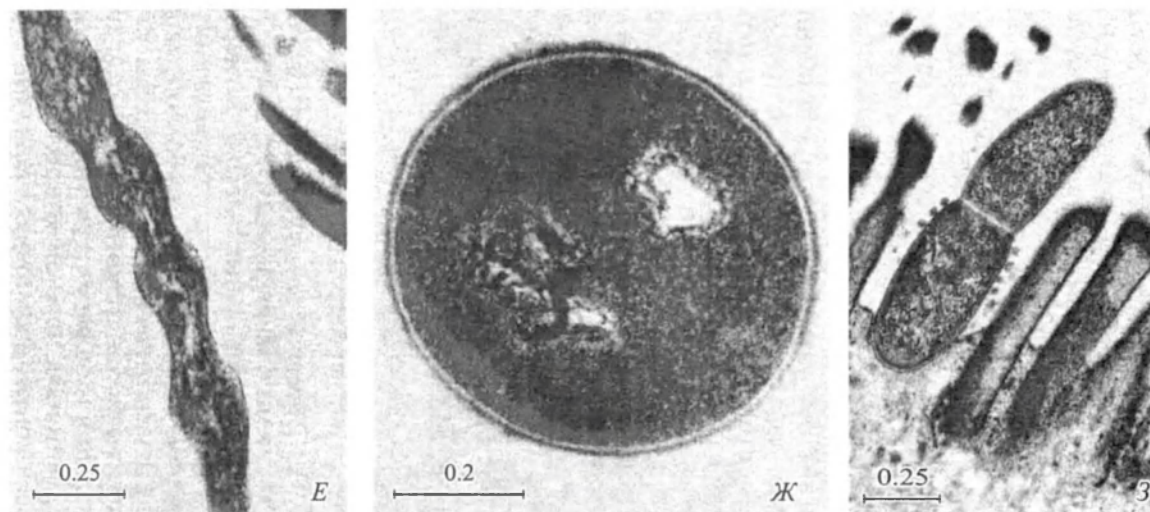


Рис. 4. Симбионтные бактерии на пищеварительно-транспортных поверхностях — тегументе паразита и кишке рыбы-хозяина.
 А — тонкие палочковидные бактерии на поверхности кишки ерша; Б — звездчатые колонии из тонких палочковидных бактерий на поверхности *P. persae* из кишечника окуней-мальков; В — поверхность кишечника окуней-мальков; Г — поверхность кишечника взрослых окуней; Д, Е, Ж — представители глубинной микрофлоры *P. persae* из окуней-годовиков; З — цепочки прокариотических клеток, прикрепленные к поверхности тегумента *P. torulosus* из синца.

Fig. 4. Symbiotic bacteria on the digestive-transport surfaces — the tegument of parasite and the intestine of fish host.

2 электронно-плотных слоя, разделенных осмиофобной зоной. Внутренний слой клеточной стенки утолщен по сравнению с наружным. Цитоплазма бактериальной клетки слабо дифференцирована. Периферические участки цитоплазмы насыщены мелкогранулярным материалом (рибосомы и полирибосомы), более гомогенные и электронно-плотные по сравнению с центральной зоной. В центральных участках цитоплазмы выявляется нуклеоид, представленный осмиофобными зонами четкообразной формы, располагающимися в виде сот. Также определяются округлые тельца высокой электронной плотности и осмиофильные фибриллы, ориентированные продольно. В отдельных участках клетки выявляются фибриллы средней электронной плотности, параллельные друг другу, косо расположенные по отношению к продольной оси клетки. Возможно, это аксиальные фибриллы, окружающие протоплазматический цилиндр клетки. Ультраструктурная организация бактерий сходна с таковой у представителей типа *Spirochaetes* (рис. 4, E).

3. *Кокки*. Клеточная стенка представлена аморфным веществом средней электронной плотности, толстым слоем окружающим клетку. На его поверхности выявляются незначительные фрагменты микрокапсулы. Клеточная стенка отграничена периплазматическим пространством от трехслойной цитоплазматической мембраны без ультраструктурных особенностей. Такое строение клеточной стенки характерно для грамотрицательных бактерий: последовательные слои — цитоплазматическая мембрана, периплазматическое пространство и многослойный пептидогликан. Цитоплазма бактериальной клетки плотная, насыщена гранулярным компонентом — рибосомами и полирибосомами. В цитоплазме выявляются мембранные структуры простого строения. Они слабо заметны среди плотного гранулярного компонента, локализованы у цитоплазматической мембраны и, возможно, представляют собой ее инвагинаты. Нуклеоид выявляется в виде осмиофильной фибриллярной структуры в состоянии выраженной компактизации, окруженной осмиофобной зоной. Такое строение нуклеоида характерно для готовящихся к делению клеток. Ультраструктурная организация бактерий сходна с таковой у представителей рода *Staphylococcus* (рис. 4, Ж).

Proteocephalus torulosus (из синца)

Цепочки прокариотических клеток образованы толстыми короткими палочковидными микроорганизмами с закругленными концами. На срезе можно наблюдать цепочки до 3 бактериальных клеток, размеры которых до 1.5 мкм в дл. и 0.15—0.4 мкм в толщ. Поверхность клеточной стенки гладкая. Клеточная стенка представлена наружной мембраной, периплазматическим пространством и цитоплазматической мембраной без ультраструктурных особенностей, что характерно для грамотрицательных бактерий. Цепочки прикрепляются к апикальной мембране тегумента, между микротрихиями своей базальной клеткой, формируя простой контакт путем соприкосновения поверхностей. В области контакта клеточная стенка бактериальной клетки несколько утолщается за счет расширения периплазматического пространства, а апикальная мембрана тегумента образует углубление, заполненное тонкофибрилярным материалом средней электронной плотности. На поверхности проксимальных отделов клетки наблюдаются везикулы, по-видимому, сформированные мембранными фрагментами, отшнуровывающимися от клеточной стенки бактерий. Цитоплазма бактериальных клеток заполнена рибосомами и полирибосомами, нуклеоид выявляется

в центральной части клетки в виде осмиофобной зоны, заполненной осмиофильным фибриллярным материалом (рис. 4, 3). Некоторые клетки размножаются путем поперечного деления с образованием перетяжки. Ультраструктурная организация бактерий близка к таковой представителей рода *Vibrio*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Из литературных источников известно, что состав бактериальной микрофлоры может изменяться в зависимости от возраста и пищевого статуса рыб, а также в зависимости от условий окружающей среды (Ringø et al., 2003). В наших исследованиях состав бактерий оказался индивидуальным у каждого изученного объекта, при этом было установлено, что микрофлора паразита и микрофлора кишечника хозяина принципиально различаются. Так, в случае вылова гольцов в одно время, но на различных участках р. Ильдъ поверхностная микрофлора паразитирующего в них *Proteocephalus torulosus* кардинально отличалась, также как и МКФ кишечника самих гольцов. Не было обнаружено сходства МКФ у паразитов одного вида — *P. torulosus*, обитающих в разных хозяевах: уклейка, синец и голец. Различалась картина заселения тегумента у *P. percae* из окуней-мальков и окуней-годовиков, причем визуально количественный и видовой состав МКФ у мальков был значительно беднее. Полученные нами данные позволяют предположить: прокариотические клетки, колонизирующие пищеварительно-транспортные поверхности рыб и цестод, заселяют их постепенно, в процессе питания рыб, что подтверждают обнаруженные нами различия в микрофлоре окуней-мальков и годовиков. При этом первостепенное влияние на видовой состав поверхностной микрофлоры рыб и паразитов оказывает пищевой рацион рыб, о чем свидетельствуют различия в кишечной МКФ гольцов, выловленных на различных участках р. Ильдъ.

Однако наннобактерии — представители поверхностных фракций микрофлоры — обнаружены у всех изученных паразитов и их хозяев. В общем составе поверхностной МКФ среди наннобактерий преобладают кокки, коккопалочки или короткие палочки с закругленными концами, причем все эти морфотипы бактерий способны образовывать микроколонии. В литературе сложилось мнение, что наннобактерии (обнаруженные на геологических образцах и в почве) образуются из обычных бактерий, которые обитали в среде с лимитированными питательными субстратами в ранней логарифмической фазе своего роста (см. обзор: Вайнштейн, Кудряшова, 2000). По нашим наблюдениям, наннобактерии, образующие биопленку на пищеварительно-транспортных поверхностях рыб и цестод и обитающие преимущественно в условиях изобилия питательных веществ, составляют нормальную симбионтную микрофлору, сосуществующую с традиционно изучаемыми бактериями. По-видимому, именно наннобактериальная симбионтная микрофлора синтезирует большую часть протеолитических и амилолитических ферментов, которые, как было показано, принимают участие в процессах пищеварения и хозяина, и паразита (Извекова, Лаптева, 2002; Извекова, 2003).

«Глубинная» симбионтная микрофлора, колонизирующая покровы *Triaenophorus nodulosus*, по нашим данным, остается неизменной при вылове шук в разных точках Рыбинского водохранилища на протяжении ряда лет, что подтверждает стабильность ее существования. У изученных нами протеоце-

фалид «глубинная» микрофлора наблюдалась лишь у 2 видов из 3, причем прокариотические симбионты *Proteocephalus torulosus* и *P. percae* различались по видовой принадлежности. У *Proteocephalus torulosus* МКФ была обнаружена при паразитировании в синце и отсутствовала у паразитов голец и уклейки. Логично предположить, что в случае *P. torulosus*, обитающих в разных хозяевах: уклейка, синец и голец, на состав симбионтной МКФ оказывают влияние физиология, биохимия и/или диета хозяев, т. е. каждому конкретному паразито-хозяинному микробиоценозу присущ индивидуальный состав симбионтных микроорганизмов. Поскольку существуют адаптации ферментных систем микрофлоры пищеварительного тракта к биохимическому составу пищи рыб, разницу в морфологическом составе микрофлоры, колонизирующей тегумент одного и того же вида паразита — *Proteocephalus torulosus*, можно объяснить различным типом питания и местообитания его хозяев (синец — планктофаг; голец — мирная рыба, питающаяся обрастаниями; уклейка питается планктоном и насекомыми).

Отсутствие у исследованных рыб глубинной микрофлоры, обитающей между микроворсинками кишечника, подтверждает устоявшееся в литературе мнение, что бактериям не дают проникать в глубь щеточной каймы плотно расположенные микроворсинки и переплетение молекул гликокаликса (Уголев, 1985). Однако, как нами было показано, кишечник щуки населен симбионтными бактериями — кокками, которые колонизируют поверхность энтероцитов преимущественно на границе 2 клеток, где микроворсинки расположены менее плотно, а также располагаются на поверхности слизистых бокаловидных клеток между редкими апикальными выростами (Корнева, 2004). Возможно, не все виды рыб обладают популяцией глубинной симбионтной микрофлоры.

Симбионтная микрофлора, обнаруженная между микротрихиями 2 видов кариофиллидных цестод, представлена 3 морфотипами, 2 из которых прикрепляются к поверхности тегумента при помощи тонких филаментов и 1 посредством более прочных фимбрий. Виды бактерий, колонизирующие тегумент *Khawia armeniaca* и *Caryophyllaeus laticeps*, отличаются, что, возможно, объясняется разными условиями в кишечнике леща и храмули; различиями среды обитания рыб-хозяев (оз. Севан и Рыбинское водохранилище); различным типом питания хозяев, в одном случае бентофагов, в другом — детритофагов (Poddubnaya, Izvekova, 2005). Однако в данном случае различие морфотипов симбионтной микрофлоры может быть обусловлено тем, что было исследовано 2 разных вида кариофиллидных цестод, колонизированных бактериями.

У *Eubothrium rugosum*, представителя отряда Pseudophyllidea, поверхность тегумента колонизируют 3 морфотипа микроорганизмов — как грамположительные, так и грамотрицательные: палочки с заостренными концами, цепочки палочковидных клеток и кокки (Поддубная, 2005), которые, по нашей классификации, также составляют глубинную микрофлору. Эти бактерии не имеют специализированных структур для прикрепления к поверхности тегумента.

Детальное изучение микрофлоры у различных животных и человека позволило сделать вывод, что каждый макроорганизм обладает уникальной микрофлорой, поскольку помимо доминантных аборигенных видов бактерий может быть населен случайными (аллохтонными) или патогенными микроорганизмами, которые вступают в конкурентную борьбу с симбионтной специфической микрофлорой и по мере возможности элиминируются организмом хозяина (Таппоск, 1999). В нашем исследовании многообразие

морфотипов одиночных и колониальных микроорганизмов, составляющих поверхностную популяцию, может отчасти зависеть от присутствия аллохтонных бактериальных клеток.

Особо следует отметить особенности взаимоотношений бактерий-симбионтов и макроорганизмов. В литературных источниках описано 2 типа присоединения бактериальных клеток к поверхности кишечника: во-первых, прочное прикрепление, происходящее за счет образования специализированных структур или за счет межклеточных полисахаридных мостиков; во-вторых, это адаптации к выживанию в слое слизистой очень близко к эпителиальной поверхности (Lee, 1980). В наших исследованиях бактерии, принадлежащие «глубинной» популяции, использовали оба типа присоединения, хотя в данном случае прикрепление происходило не к кишечнику хозяев, а к поверхности паразита. Цепочки палочковидных клеток, колонизирующие тегумент *Proteocephalus torulosus* (из кишечника синца), прикрепляются к поверхности паразита посредством тонкофибриллярного материала. Над тегументальной поверхностью *P. percae*, в слое слизи обнаружены веретеновидные и спиральные бактерии, которые характерны также для кишечной МКФ мышей и крыс. Специфическая форма помогает этим бактериям активно передвигаться в вязкой среде слизистой и успешно противостоять постоянно направленному току химуса (Lee, 1980).

Можно предположить существование симбионтной аутохтонной микрофлоры и у других плоских червей. Наше мнение подтверждается исследованиями покровов трематоды *Gyliauchen nahaensis*, на поверхности которой обнаружено 7 морфологических разновидностей микроорганизмов (Hughes-Stamm et al., 1999). С поверхности тегумента трематоды *Clinostomum marginatum* высеяли 6 культур микроорганизмов (Aho et al., 1991). Никаких изменений в структуре тегумента при наличии микрофлоры и ее отсутствии не наблюдалось, что также свидетельствует в пользу симбионтной природы обнаруженных бактериальных клеток. Поскольку тегумент марирует участвует в процессах транспорта питательных веществ наряду с пищеварительной системой (Pappas, 1988), можно предположить, что микрофлора, обнаруженная на поверхности тегумента трематод, также принимает участие в процессе пищеварения и вступает в конкурентные отношения за питательные вещества с паразитом и хозяином. Однако реальный вклад тегумента как пищеварительно-транспортной поверхности у трематод до сих пор не оценен, и физиологические характеристики микрофлоры трематод остаются не известными.

Таким образом, у цестод обнаружена разнообразная симбионтная микрофлора, формирующая «поверхностную» и «глубинную» популяции, представленные одиночными и колониальными бактериями кокковидной, палочковидной и извитой форм. «Поверхностная» популяция характеризуется обилием, большим морфологическим разнообразием, широкими пределами изменчивости и облигатным доминированием наннобактерий. Для «глубинной» популяции бактерий характерны малочисленность, однообразие и относительно стабильный состав морфотипов. Особенности взаимодействия симбионтной микрофлоры и цестод свидетельствуют о взаимной адаптации бактерий и паразитов. Это проявляется, в частности, наличием специализированных клеточных контактов и отсутствием ультраструктурных признаков патогенного воздействия бактерий на тегумент цестод. Другим подтверждением симбиотических взаимоотношений цестод и микрофлоры служит специфичность морфологического состава бактерий у цестод разной видовой принадлежности.

Результатом симбиотических взаимодействий становится интеграция физиологических механизмов хозяина, паразита и кишечной микрофлоры. Наличие многочисленных наннобактерий в «поверхностных» популяциях тегумента цестод и кишечника рыбы, по-видимому, не случайно и может быть связано с активной ролью этих микроорганизмов в колонизационной резистентности, пищеварительных процессах и иммуномодуляции паразита и хозяина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 03-04-48271).

Мы выражаем искреннюю признательность сотрудникам Института биологии внутренних вод РАН А. Е. Жохову, А. И. Цветкову, А. В. Тютину и Е. В. Кузьмину за активную помощь в сборе материала.

Список литературы

- Вайнштейн М. Б., Кудряшова Е. Б. О наннобактериях // Микробиология. 2000. Т. 69, № 2. С. 163–174.
- Извекова Г. И. Активность протеаз микрофлоры пищеварительно-транспортных поверхностей кишечника шуки и паразитирующего в нем *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Cestoda, Pseudophyllidea) // Биол. внутр. вод. 2003. № 3. С. 82–87.
- Извекова Г. И., Лаптева Н. А. Микрофлора пищеварительно-транспортных поверхностей кишечника шуки и паразитирующего в нем *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (Cestoda, Pseudophyllidea) // Биол. внутр. вод. 2002. № 4. С. 75–79.
- Корнева Ж. В. Ультраструктурная организация бактерий, ассоциированных с тегументом цестоды *Triaenophorus nodulosus* и кишечником ее хозяина — шуки // Тез. докл. Всерос. конф. Новосибирск, 2004. С. 384.
- Кузьмина В. В., Извекова Г. И., Куперман Б. И. Особенности физиологии питания цестод и их хозяев — рыб // Успехи совр. биол. 2000. Т. 120, № 4. С. 384–394.
- Поддубная Л. Г. Электронно-микроскопическое исследование микрофлоры, ассоциированной с тегументом цестоды *Eubothrium rugosum*, паразита кишечника налима // Паразитология. 2005. Т. 39, вып. 4. С. 293–298.
- Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука, 1985. 544 с.
- Aho J. M., Uglem G. L., Moore J. P., Larson O. R. Bacteria associated with the tegument of *Clinostomum marginatum* (Digenea) // Journ. Parasitol. 1991. Vol. 77, N 5. P. 784–786.
- Hansen G. H., Olafsen J. A. Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish // Microbial Ecology. 1999. Vol. 38, N 1. P. 1–26.
- Hugles-Stamm S. R., Cribb T. H., Jones M. K. Structure of the tegument and ectocommensal microorganisms of *Gyliauchen nahaensis* (Digenea: Gyliauchenidae), an inhabitant of herbivorous fish of the great barrier reef, Australia // Journ. Parasitol. 1999. Vol. 85, N 6. P. 1047–1052.
- Izvekova G. I., Kuperman B. I., Kuz'mina V. V. Digestion and digestive-transport surfaces in cestodes and their fish hosts // Comp. Biochem. Physiol. 1997. Vol. 118 A, N 4. P. 1165–1171.
- Lee A. Normal flora of animal intestinal surfaces // Adsorption of microorganisms to surfaces. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1980. P. 146–171.
- Leser R., Pointel J.-G. Implantation de la flore bacterienne dans le tube digestif de la truite arc-en-ciel. Etude au microscope electronique a balayage // Ann. Zool. Ecol. Anim. 1979. Vol. 11. P. 327–335.
- Pappas P. W. The relative roles of the intestines and external surfaces in the nutrition of monogeneans, digeneans and nematodes // Parasitology. 1988. Vol. 96, N 105–121.
- Poddubnaya L. G., Izvekova G. I. Detection of bacteria associated with the tegument of caryophyllidean cestodes // Helminthologia. 2005. Vol. 42, N 1. P. 9–14.
- Ringø E., Gatesoupe F.-J. Lactic acid bacteria in fish: a review // Aquaculture. 1998. Vol. 160. P. 177–203.

- Ringø E., Olsen R. E., Mayhew T. M., Myklebust R. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish // *Aquaculture*. 2003. Vol. 227. P. 395—415.
- Tannock G. W. Analysis of the intestinal microflora: a renaissance // *Antonie van Leeuwenhoek*. 1999. Vol. 76. P. 265—278.

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Поступила 1 II 2006
пос. Борок Ярославской обл.,
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,
Оренбург

THE SYMBIOTIC MICROFLORA ASSOCIATED WITH THE TEGUMENT OF PROTEOCEPHALIDEAN CESTODES AND THE INTESTINES OF THEIR FISH HOSTS

J. V. Korneva, A. O. Plotnikov

Key words: symbiotic bacteria, nannobacteria, gut microbiota, Cestoda, tegument, fresh-water fishes, ultrastructure.

SUMMARY

The indigenous symbiotic microflora associated with the tegument of proteocephalidean cestodes and the intestines of their fish hosts has been investigated in morphological and ecological aspects. The indigenous microflora associated with the cestode tegument consists of the nannobacteria population, which was present obligatorily on the surface of tegument, and the «deep microflora». The deep microflora associates with some few species of parasites only. Each individual host-parasite micro-biocenosis includes specific indigenous symbiotic microorganisms, with the differing microfloras of host intestine and parasite. Physiology, biochemistry and/or diet of hosts apparently influence on the symbiotic microflora's structure of parasites. The least bacteria abundance and diversity of their morphotypes were observed in the parasites from baby fishes. The diversity and abundance of bacteria were increased with the fish host ageing and the formation of the definitive structure of its intestine. It is an evidence of the gradual invading of the intestinal parasites (cestodes) tegument by bacterial cells. The invading is realized on the base of the microflora that was present in the food of fish host. The symbiotic microflora has specific morphological features, can regulate the homeostasis of the cestodes and fish hosts and also can maintain equilibrium of alimentary and immune interrelations in the host-parasite system.